

نام فارسی درس: آزمایشگاه بیوشیمی متابولیسم

نام انگلیسی درس: Metabolism Biochemistry Laboratory

تعداد و نوع واحد: ۱ واحد عملی

تعداد ساعت: ۳۲

نوع درس: تخصصی

پیشنیاز: دارد (همزمان با درس بیوشیمی متابولیسم)

آموزش تکمیلی: ندارد



هدف درس:

هدف این درس آشنائی دانشجویان دوره کارشناسی رشته زیست شناسی با روش های عملی بررسی متابولیت های اولیه مانند کربوهیدراتها، چربی ها و پروتئینها و واکنشهای تنفسی است.

سرفصل درس:

- ۱- متابولیسم کربوهیدراتها- هیدرولیز نشاسته تحت اثر آنزیم آمیلاز- بررسی فعالیت آنزیم در شرایط مختلف درجه حرارت و تعیین درجه حرارت بهینه و بدست آوردن منحنی زمان هیدرولیز نسبت به درجات مختلف حرارت- رابطه هیدرولیز و هضم نشاسته با عبور نور (Transmission)
- ۲- تعیین منحنی های زمان هیدرولیز نسبت به شرایط مختلف pH و تعیین بهترین pH فعالیت آنزیم- بررسی اثر تراکم آنزیم و تراکم سوبسترا روی فعالیت آنزیم و تعیین زمان هیدرولیز در تراکم های مختلف سوبسترا و آنزیم- بدست آوردن V_{max} و K_m آنها- مطالعه اثر ضد عفونی کننده ها و مهار کننده های آنزیمی.
- ۳- استخراج مونوساکاریدهای احیاء کننده از بافتهای گیاهی و جانوری- اندازه گیری مقدار آنها با رسم منحنی های مربوطه - تعیین بیشینه طول موج و بهترین طول موج مناسب برای اندازه گیری مقدار قند
- ۴- شناسائی و تخلیص قند از طریق کروماتوگرافی کاغذی- اندازه گیری R_f های مربوطه با استفاده از قندهای معلوم به عنوان شاهد و بررسی قندهای موجود در بافتها با بکارگیری انواع دو بعدی آن
- ۵- استخراج لیپیدها و رنگیزه های گیاهی- جداسازی آنها و مقایسه جداسازی از طریق کروماتوگرافی لایه نازک و کروماتوگرافی کاغذی- تعیین بهترین روش کروماتوگرافی برای هر کدام از آنها
- ۶- استخراج اسیدهای آمینه و تعیین و شناسائی انواع آنها از طریق کروماتوگرافی لایه نازک و کاغذی- تعیین R_f و مشخص نمودن نوع اسید آمینه به کمک R_f و مقایسه با کروماتوگرافی دو جهته آن



- ۷- بکارگیری و مقایسه جداسازی کروماتوگرافی ستونی برای رنگیزه ها و اسیدهای آمینه و سعی در بدست آوردن قله های (پیک) خالص جهت ثبوت درجه خلوص اجزای تشکیل دهنده آنها
- ۸- استخراج پروتئینها از بافتهای مختلف گیاهی و جانوری- بدست آوردن بافر مناسب برای خالص سازی بهتر- تعیین مقدار آن و انتخاب مقدار مناسب جهت تزریق در ژل الکتروفورز برای بدست آوردن باندهای بیشتر و بهتر
- ۹- تهیه ژل پلی آکرلامید و جداسازی پلی پپتیدها از طریق الکتروفورز و تعیین وزن مولکولی آنها
- ۱۰- متابولیسم پورین و پیریمیدین- استخراج مشتق متیله پورین انجام شده و تعیین مقدار در نمونه های مختلف
- ۱۱- بهینه سازی روش استخراج با محاسبه و تعیین درصد خطای آزمایش و ایجاد یک منحنی دقیق استاندارد و با مداخله درصد خطا مقدار واقعی ماده استخراجی
- ۱۲- استخراج اندامکهای سلولی از بافتهای گیاهی و جانوری با کمک و استفاده از شیب و گرادیان غلظت Continuous و discontinuous
- ۱۳- جداسازی اندامک های حاصل از گرادیان به کمک Fraction Collector و تعیین مقدار جذب و سنجش خلوص فراکشنهای جدا شده از طریق اسپکتروفتومتری یا از طریق میکروسکوپی
- ۱۴- اندازه گیری تنفس و فتوسنتز در نمونه بافتی گیاهی و جانوری و بدست آوردن کسر تنفسی و مقایسه این کسر تنفسی در شرایط مختلف زندگی

منابع:

1. Berg, J.M., Tymoczko, J.L. and Stryer, L. (2010) Biochemistry, 7th Edition. W.H. Freeman, New York.
2. Nelson, D.L. and Cox, M.M. (2008) Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition. W.H. Freeman.
3. Yohnson, P. (2010) Chromatography Techniques.
4. Hinton, R. (2008) Density gradient Centrifugation.

